

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. Januar 2001 (04.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/00802 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/00 (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05853
- (22) Internationales Anmeldedatum:
23. Juni 2000 (23.06.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
199 29 365.1 25. Juni 1999 (25.06.1999) DE
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): BASF-LYNX BIOSCIENCE AG [DE/DE]; D-69120 Heidelberg (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): MACK, Matthias [DE/DE]; Mönchhofstrasse 3 C, D-69120 Heidelberg (DE). HERBSTER, Karin [DE/DE]; Kolpingstrasse 23a, D-76694 Forst (DE).
- (74) Anwalt: GOLDSCHEID, Bettina; BASF Aktiengesellschaft, D-67056 Ludwigshafen (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

A2 (54) Title: PARTIAL SEQUENCES OF THE GENES OF THE PRIMARY AND SECONDARY METABOLISM FROM *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* AND THEIR USE IN THE MICROBIAL PRODUCTION OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES

WO 01/00802 (54) Bezeichnung: TEILSEQUENZEN DER GENE DES PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLISMUS AUS *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* UND IHR EINSATZ ZUR MIKROBIELLEN HERSTELLUNG VON PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLITEN

(57) Abstract: The invention relates to methods of producing primary and secondary metabolites using genetically engineered organisms.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe gentechnisch veränderter Organismen.

Teilsequenzen der Gene des Primär- und Sekundärmetabolismus aus *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit den Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe eines gentechnisch veränderten Organismus. Diese Erfindung besteht in Teilsequenzen von Genen, die anabolische und katabolische Enzyme aus *Corynebacterium glutamicum* kodieren, und aus ihrem Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Metaboliten.

15 Die Konzentrationen der Metabolite sind in lebenden Zellen gewöhnlich gut ausbalanciert und überschreiten nicht eine gewisse Grenze. Unter manchen Wachstumsbedingungen oder als Folge einer gentechnischen Veränderung können sie allerdings im Überschuß gebildet und in das Kulturmedium ausgeschieden werden. Für das
20 Zellwachstum kann man relativ billige Stoffe als Kohlenstoffquelle verwenden. Mit Hilfe des biochemischen Potentials der Zellen (in den meisten Fällen mikrobiellen Ursprungs) oder der Enzyme lassen sich diese preiswerten Stoffe in ein breites Spektrum wertvollerer Substanzen umwandeln. Zur fermentativen
25 Herstellung von Metaboliten zu Verkaufszwecken setzt man insbesondere Mikroorganismen ein. Mikroorganismen lassen sich durch gentechnische Veränderung der Biosynthesewege in ihrer Biosyntheseleistung auf bestimmte Metabolite hin optimieren, und man erzielt dadurch höhere Syntheseleistungen. Gentechnische Verände-
30 rung meint hier, daß die Anzahl der Kopien oder die Geschwindigkeit der Transkription bestimmter Gene für bestimmte Synthesewege erhöht ist. Allerdings muß man die geeigneten Zielgene für diese Verbesserung zuerst identifizieren. Wir beschreiben nun im folgenden die Zielgene und Teilsequenzen davon, die durch Klonen der
35 DNA und anschließende Sequenzierung mit dem Ziel der Stammverbesserung identifiziert wurden.

Ein Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 1 beschrieben ist oder
40 sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 1 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 2 beschrieben ist
45 oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 2 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

2

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 3 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 3 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

5

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 4 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 4 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

10

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 5 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 5 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

15

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 6 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 6 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

20

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 7 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 7 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

25

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 8 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 8 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

30

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 9 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 9 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

35

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 10 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 10 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

40

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 11 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 11 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

45

3

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht im Einsatz der Nucleotidsequenz SEQ ID NR. 1 oder SEQ ID NR. 2 oder SEQ ID NR. 3 oder SEQ ID NR. 4 oder SEQ ID NR. 5 oder SEQ ID NR. 6 oder SEQ ID NR. 7 oder SEQ ID NR. 8 oder SEQ ID NR. 9 oder SEQ ID NR. 10 oder SEQ ID NR. 11 zur Konstruktion genetisch modifizierter Mikroorganismen.

Die vollständigen Gene lassen sich mit Hilfe konventioneller Techniken wie Hybridisierung herstellen, wobei man von den oben offenbarten Genfragmenten ausgeht. Diese Gene lassen sich einsetzen zur Konstruktion rekombinater Wirtsorganismen, die die Biosynthese wertvoller Bioprodukte, wie Aminosäuren, Fettsäuren, Kohlenhydrate, Vitamine und Kofaktoren ermöglichen. Die biologische Aktivität dieser Gene wird im experimentellen Teil dieser Beschreibung offenbart. Mit Hilfe dieser Gene wird es möglich, Engpässe bei der Biosynthese von Bioprodukten zu umgehen und so die Syntheseleistung mikrobieller Systeme zu steigern.

Ein weiterer Gesichtspunkt dieser Erfindung besteht in einem Expressions-Vektor mit zumindest einem der oben erwähnten Polynucleotide. Der Expressions-Vektor verbindet funktionell eines oder mehrere dieser Polynucleotide mit regulatorischen Einheiten wie Promotoren, Terminatoren, ribosomale Bindungsstellen und dergleichen. Gewöhnlich gehören zu einem Expressions-Vektor weitere Einheiten wie Genmarker und Replikationsabschnitte.

Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in der mit einem Expressions-Vektor transformierten Wirtszelle.

Zur gentechnischen Veränderung kann man jeden beliebigen prokaryontischen Mikroorganismus verwenden, vorzugsweise *Corynebacterium*- und *Bacillus*-Arten, aber auch jeden beliebigen eukaryontischen Mikroorganismus, vorzugsweise Hefestämme der Gattung *Ashbya*, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* und *Hansenula*.

35

Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in einer Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die in folgenden Schritten besteht:

40 (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedingungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind; und

(b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

45 In den folgenden Beispielen wird die Erfindung detaillierter beschrieben.

Beispiel 1

Herstellung einer Genombibliothek von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032

5

Die DNA aus dem Genom von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 lässt sich nach Standardmethoden gewinnen, die z.B. von Altenbuchner, J. und Cullum, J. (1984, Mol. Gen. Genet. 195:134-138) beschrieben sind. Die Genom-Bibliothek lässt sich daraus mit jedem beliebigen Klonierungsvektor, z.B. pBluescript II KS- (Stratagene) oder ZAP Express™ (Stratagene), nach Standardvorschriften gewinnen (z.B. Sambrook, J. et al. (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press). Jede beliebige Fragmentgröße kann man dabei verwenden, vorzugsweise Sau3AI-Fragmente mit einer Länge von 1 kb, die sich in Klonierungsvektoren mit verdautem BamHI einbinden lassen.

Beispiel 2**20 Analyse der Nucleinsäuresequenzen der Genombibliothek**

Aus der im Beispiel 1 hergestellten Genombibliothek kann man einzelne *E. coli*-Klone auswählen. *E. coli*-Zellen werden nach Standardmethoden in geeigneten Medien kultiviert (z.B. LB ergänzt mit 100 mg/l Ampicillin), und danach lässt sich dann die Plasmid-DNA isolieren. Klont man Genomfragmente aus der DNA von *Corynebacterium glutamicum* in pBluescript II KS- (siehe Beispiel 1), lässt sich die DNA mit Hilfe der Oligonucleotide 5'- AATTAAC-CCTCACTAAAGGG-3' und 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3' sequenzieren.

30

Beispiel 3**Computeranalyse der isolierten Nucleinsäuresequenzen**

35 Die Nucleotidsequenzen lassen sich z.B. mit Hilfe des BLASTX-Algorithmus (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410) aneinanderfügen. Auf diesem Weg kann man neuartige Sequenzen entdecken und die Funktion dieser neuartigen Gene aufklären.

40 Beispiel 4**Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Fettsäuresynthase (2.3.1.85)**

45 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde, an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

5

Sequenz, wie sie mit SEQ ID NR. 1 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) ergab diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäuresynthasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit war mit einem Fragment mit 519

- 5 Basenpaaren für die Fettsäuresynthase aus *Corynebacterium ammoniagenes* gegeben (NRDB Q04846; 68% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 5

10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Phytoen-Dehydrogenase (EC 1.3.-.-)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 2 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Phytoen-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Phytoen-Dehydrogenase aus *Methanobacterium thermoautotrophicum* (NRDB O27835; 37% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 6

25

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Alkohol-Dehydrogenase (EC 1.1.1.1)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 3 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Alkohol-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Alkohol-Dehydrogenase aus *Bacillus stearothermophilus* (NRDB P42327; 50% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 7

40

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferase (EC 2.6.1.62)

45 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

6

Sequenz, die als SEQ ID NR. 4 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 342 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Adenosylmethionin-8-amino-7-oxononanoat-Aminotransferase aus *Erwinia herbicola* (NRDB P53656; 40% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

10 Beispiel 8

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Phosphoglycerat-Mutase 2 (EC 5.4.2.1)

15 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 5 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Phosphoglycerat-Mutases 2 aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 204 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Phosphoglycerat-Mutase 2 aus *Mycobacterium tuberculosis* (NRDB P71724; 54% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

25

Beispiel 9

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Xylulose-Kinase (EC 2.7.1.17)

30

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 6 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Xylulose-Kinasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 633 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Xylulose-Kinase aus *Streptomyces rubiginosus* (NRDB P27156; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für 45 eine Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren (EC 6.2.1.3)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 7 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäure-CoA-Ligasen für langkettige Fettsäuren aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 369 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren aus *Archaeoglobus fulgidus* (NRDB O30302; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 11

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Guanosinpentaphophat-Synthetase

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 8 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Guanosinpentaphophat-Synthetasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 606 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Guanosinpentaphosphate-Synthetase aus *Streptomyces coelicolor* (NRDB O86656; 70% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 12

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein NTRB-Homologes

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 9 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit NTRB-Homologen aus verschiedenen Organismen. NTRB ist ein Regulatorgen für die Tanskription, das an der Regulierung der Stickstoffassimilation beteiligt ist. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 645 Basenpaaren bestehenden Fragment für NTRB aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q50049; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 13

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifS*-Homologes enthält

5

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 10 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifS* aus verschiedenen Organismen. *NifS* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 594 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifS* aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49690; 62% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 14

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifU*-Homologes enthält

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 11 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifU* aus verschiedenen Organismen. *NifU* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 339 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifU* aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49683; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Sequenzliste

35 (I) Allgemeine Angaben

(1) Anmelder:

(A) Name:	BASF-LYNX Bioscience AG
40 (B) Straße:	Im Neuenheimer Feld 515
(C) Stadt:	Heidelberg
(D) Land:	Deutschland
(E) Postleitzahl:	69120
(F) Telephon:	06221/4546
45 (G) Telefax:	06221/454770

9

(2) Titel: Sequenzen der Gene für den Primär- und Sekundärmetabolismus im *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

(3) Anzahl der Sequenzen: 11

(4) Art der mit dem Computer lesbaren Form:

10

(A) Datenträger: Diskette
(B) Computer: IBM PC kompatibel
(C) Betriebssystem: Windows NT
(D) Software: Microsoft®word 97 SR-1

15

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 1:

(1) Sequenzcharakteristika:

20 (A) Länge: 693 Basenpaare
(B) Art: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

25 (2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

30

(A) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 1:

35 CTGTTNCCCGGGGATCAGATTCACNGGTCNGCCAGTGAAGTCGACGGTATTGGCGCGGATGC
TGCCTGCTCGCGAACAGTGGAAAGTTGCCCTGGACAGCAGTTCTCTGCAATTCTTGGGTGGAGT
AGGTTTCCACGCCTGCTCTTCAGCTGCCCTGACCAAAGGATCGTGCAGGCCATGAGGCCGGTG
CCGCGAACCCAACCGATGTGAGCGTGCACGAGGGAGGTGTGCTCCCCATGCAGCTGCTCTGC
GTTCCAACGGGTAACCACGGCGTCGAGAGCTGCCTGGATTCACCGTATGCACCATGCCACCGA

40 AGCGTCCACGGTTGGTAAACCTGGATGACCACGTGCAGGCCGGTACCCACGTTGATGGAGGAG
CCCAATGGCGCAAGACCTGCGATGAGGCCTCAACAGACCAAGCAGAGCAGAAGTCGCATCTGGGATTC
TGCTGTGGCCTGCATCTGCATGGATCCGGACACCGCGAGGTGCCCGAATGGAACAGCAAGGTAN
GGACCAAACGGCTTGACCAGCTGGATGCNCGTGACGGNGGTGGCTGTCGATCCACCCAGTTGA
TGATGGCTCGATGTCTGATANGACTAAGTTACCGCACGATCACAGTGCCTGCCGNTGCAGGAA

45 CGTCCTANNANTCTTGAGAATTCAAGCCGNCTGGCCGAGTTGAN

10

(I) Angaben zu SEQ ID NR. 2:

(1) Sequenzcharakteristika:

- 5 (A) Länge: 1869 Basenpaare
 (B) Typ: Nucleinsäure
 (C) Strangtyp: Doppelstrang
 (D) Topologie: linear
 (2) Molekülart: DNA
 10 (3) hypothetisch: nein
 (4) Antisense: nein
 (5) Herkunft:
 15 (B) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*
 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 2:
 ACAATCAATGTCATGACCAGCGGTGATCCAAAATTAAATTACGCTTCGGCAATAACAAAGT
 20 TGTGAAATAACAGATGCCGTGATCGTGTCTTCATTAAGCAGGCTGATGAGCTGATCGTGAAGA
 TCGACAAACTGCTTGAGAGCAAAGAAAAAGTCCCGTTAAGTCCGATCCACACTGTTGTCGG
 CGGAGACGCTTGAGCACGTTCTGCAGAGATCAAACACATAGATACGCCACCCCTGGAAGTGT
 GGTGTACCTGCGTCATACAGGCCATCTACTTTGCGGGATTGTTAGAACCCCTAAAGAACGCCG
 ATTGTGCCAGGGTGTGTGAGGGGCCAATGGACCCGCCCTCCAGGAGTTGTATCGGTCTGCGAAG
 25 TCGGCAGGGCCGATGGTGCCTGCACAACAATGCGGCTTCCAAACCATCAATGCCAGCCATCG
 CCCAATTGAGCCACTGCTGCTATTGCGATCCGGCCCACCATGTCAGATTCTTCTCCGTAAGCGG
 ACCCGTGACCAATGGAGACATCGGCGGGTACTGGGACCAGGATGAAGAGGTTCTCGTGGCCTTCG
 GGTGCGGCATCGGAATCTGTTGGAGGTCTTGGAGATCTAGATGGATTCTGAAGCCGGGAATT
 TGGGGTGGAGCCGTCGAAAACTTGCGGAATCTTGTCCAGTCGGAGGAAAAAGCAGGGTGTG
 30 CTCCCCCTCACGCCCTGCCAAAACCAGCACAGTACTGAGGCCGGTTGTTGTTCTTCAGCTCG
 TCTCCGGCTTCGCGCACAAACGAAGCAGGTAGGAGTTGGGTTTCGGTGTGGCTGATCAGCGCAG
 CTGATCACGATATCGGCTTCGATGAACTCTGAGCCACTTGGACGCCCTGTGGCGTTTGGCCTTG
 GGTGGTGGATTGCGCTGACGGGGTGCCGAGGTGGAGGACGGCGTCGATAAGCGAAATTAGTG
 CCTTGATGAAGGCCGGTGAAGGCCCTCGGGATAGGAGACGCCCTGGACGAGGTGGCTGGCTC
 35 ATGAGGTGATAGAGCGCCGGGGTGTGCGAAGGGTCTGAGGAGAGGAAAATGCGGGTAGCTAA
 GATTGGCGCAGTTGTATCGCGGAATTGGGTGTTGACCTTGACTTTAGCGAGGTCGACAGGC
 TTGCTAGAAGTTGGTAAAAGGCCAGCATGCCGGGCTTAAGTATGGATGAAGTTGGTGAAG
 TTGGTGTAGAGGAAGCCGTCGATGGCCAGGTTGAGACCTGTGTGGCGAGTCGATATAGGTGCG
 CAGTTGGCGCCGGCGCCGGGTTCGCGGGATTGAAAAGCTCGGCCATCGCATCGATGTGGAGG
 40 TGACGTCGATGAATTGCCGTGGTCGATGACGCGTAGGCGGGTTCAAGTGGCACGAGGTGCG
 AGGTGGTCGATGGAGGTGCCGAGAGCTAAAGAAGTGGGACATGGCGTCGGCATGAGGTA
 CCAGCTGGGGCCGGTGTCCCAGCGGAAGCCGTCGAGTTGAGGTCCCAGGCGCCGAGGT
 GCTCGTTTGTGACGAGGTGGACTTCATATCCTCGCGTAAGAGCAGTGGCGTGGTGGCTAGT
 CCTGCTAGTCCCCGCCGATGACCACTGCTTTGTCAAGTGGCACATGCT
 45 TTGGTTGCCAGGCTGGCTTTTCAAGACGGCACCCGAATCCGCCGTTTTAAGTCTTCGAG

11

GGACGCGGATTCCAGGTTGTCCACGAGGCAACCGTAGAGATCGGTGCCGGCGCACACCGGTT
GCGGCCAAATGGCAGCAGCGGAATGCTCAGCCGGCGCATCCAAATC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 3:

5

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1035 Basenpaare

(B) Typ: Nucleinsäure

10 (C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

(3) hypothetisch: nein

15 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(C) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

20

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 3:

ATGACCAC TGCTGCACCCCAAGAATT TACCGCTGCTGTTGAAAAATT CGTTCATGACGTGAC
CGTGAAGGATATT GACCTTCCAAAGCCAGGGCCACACCAGGCATTGGTGAAGGTACTCACCTCCG
25 GCATTTGCCACACCGACCTCCACGCCTGGAGGGCGATTGGCCAGTAAAGCCGAACCACCATTC
GTACCAGGACACGAAGGTGTAGGTGAAGTTGTTGAGCTCGGACCAGGTGAACACGATGTGAAGGT
CGCGATATTGTCGGCAATGCGTGGCTCTGGTCAGCGTGTGGCACCTGCGAATACTGCATCACCG
GCAGGGAAACTCAGTGCAACGAAGCTGAGTATGGTGGCTACACCCAAAATGGATCCTCGGCCAG
TACATGCTGGTGGATACCCGTTACGCCGCTCGCATCCCAGACGGCGTGGACTACCTCGAAGCAGC
30 ACCAATTCTGTGCAGGCGTGA CTGTCTACAAGGCACTCAAAGTCTCTGAAACCCGCCGGCC
AATT CATGGTGATCTCCGGTGT CGGCCGGA CTTGGCCACATCGCAGTCCAATACG CAGCGGCGATG
GGCATGCGTGTCA TTGCGGTAGATATTGCCGATGACAAGCTGGA ACTTGCCCGTAAGC AC GGTG
GGAATT TACCGTGAATGCGCGTAATGAAGATT CAGGCAGGCTGTACAGAAGTACACCAACGGTG
GCGCACACGGCGTGTGACTGCAGTTCACGAGGCAGCATT CGGCCAGGCACTGGATATGGCT
35 CGACGTGCAGGAACAATT GTGTTCAACGGTCTGCCACCGGGAGAGT CCCCAGC ATCCGTGTTCAA
CATCGTATTCAAGGGCCTGACCATCCGTGGATCCCTCGTGGAAACCGCCAAGACTTGCCGAAG
CGCTCGATTCTTGCA CGCGGACTAATCAAGCCAACCGTGAGTGAGTGCTCCCTCGATGAGGTC
AATGGTGTGCTTTACCGCATGCGAACGGCAAGATCGATGGTGTGGCGATT CGTTTC

40 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 4:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1002 Basenpaare

45 (B) Typ: Nucleinsäure

(C) Strangtyp: Doppelstrang

12

- (D) Topologie: linear
- (2) Molekülart: DNA
- (3) hypothetisch: nein
- 5** (4) Antisense: nein
- (5) Herkunft:
- (D) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*
- 10**
- (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 4:

AAGTGGAGCTCGCGCCCTGCAGGTCGACACTAGTGGATCAGAGGCATACTCCGGCGGACTCACC
 TACTCCGGACACCCACTTGCAGTAGCACCCGCCAAGGCAGCGCTGGAGATTACGCGGAAGGAGA
15 GATCATTCCACCGTAGCTCGACTTGGCGCTGAAC TGATCGAACCTCGCCTTCGTGAACTAGCGG
 AAGAAAACGTAGCGATCGCTGACGTGCGGGCATCGGATTCTTCTGGGCAGTGGAGTTCAATGCA
 GACGCCACTGCCATGGCTGCCGGTGCTGCAGAATTCAAGGAACGCGGCGTGTGGCCGATGATCTC
 CGGCAACCGATTCCACATCGCGCCGCGCTGACCACCACTGATGACGAATTGGTAGCACTGCTGG
 ACGCGGTGGAAGCTGCAGCCAAGCTGTCGAGCTGACCTTCGCTGGGCGTTGTTCTAAGTTTC
20 TAGATAACAAGGCCAGCACAGACCACATNTCTACGACCCCCAAAAACCGACTCCAAGCTCCGCGG
 CGACNAANCCCGCGCTCGCGCCACCGACCAAGCAGCCGGTCCAGGTTAAAGATTGCTTTCGA
 CGCTCCCCTCCACCTCATTCAATGCGCGGAAGGGATTCCCTGCATGTTAACGCCTATAGGAAA
 AAGTGTTCGCATATCACCCCTGTATTCAAACACTTGAGCGGGTAGANTGGGTGGTAACNACCCNG
 GGAAAGGGGAAAGACACCATGAGCATNCACNCACNTCCAAGCNCTCNCCACAGCANTCAACGC
25 CATCNACAACCATTGNCAGCATGCTCNAACATNGTGTTCNCCCANAACAATANANGCNTNNA
 NCCCGACTCANCNCCTANAANACNCCTTCACCACACGCCNCCTCGNCCCCAAACCAAACCCCTCG
 CCNAAGCNCAACNCGCCACNCATTNGCTCCCNCCNTNNATACCTNCCNCCTCGGATATCN
 AGCANGGCCNCACCGNTCATTNCCN

30 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 5:

- (1) Sequenzcharakteristika:
- (A) Länge: 1007 Basenpaare
- 35** (B) Typ: Nucleinsäure
- (C) Strangtyp: Doppelstrang
- (D) Topologie: linear
- (2) Molekülart: DNA
- 40** (3) hypothetisch: nein
- (4) Antisense: nein
- (5) Herkunft:
- 45** (E) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

13

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 5:

TCCCNATTGGGTACCTTACCTGGTACCCACCCGGTGGAAAATCGATGGGCCGCGGCCGCTCTA
 GAAGTACTCTCGAGAAGCTTTGAATTCTTGGATCCGAGCTGAACACATGGTGATGTTTTT
 5 TGAACCAGCACTGAGGCTGCGCTGGCCGCCTGTTGAAAGCCCAGGTCAAGACAGCTCTGTGTC
 TTGTCCTGCATTGGGACGTGGCGTTGTATTCACTGCTCGTAGCCAGGCTCGTATTCA
 GAGTCACAGGACTACCTCTTAATCGTCCTCGTAGCCAGGCTCGTATTCA
 GTGGCAAAGGTGGGA
 GTTCATCAATGCTGTCGATGTTGCGGATATCCGCCTCATCAGACCAGGAGGATNCACGCNTGAAG
 GTTTCAAGTCCTCAATTCAATGAGTGGGAGTCNCGGTACAGACNATCCANTCCGTATAACTC
 10 GCGCTCTGCCTGCGTGAACGTGGATAACAACCNATCCGTAGTCAAGGAGAACCCAACNGTTT
 CGCGGTTGCCTCACGGCGTTAGGCTCGAAACCAGCCTGGTCATCTNCATCTCGATTCCTC
 NACAATGGCGCCACCTGGCGCTCATTGTCGAGATGCAACNACNAANCAATTCTCGTGATT
 GNCGATCACTGTCNNAAACATCCAATNACAGCGATGTCNNCNGCCTTCTTNTGCCGCTGCT
 TTCGCCNCCATGGTCCCAGGCCGATCGANTCCTCCATNTGCANATCAAAATTNNNTAAANCAGC
 15 TNCNTGTNGTTCCNCACCNCTTTTANGTCCGAAACCNAACCTNCNGAAANAATCCCCACGTC
 AACCTCCCTNTTCCNCTANACCGGGTGATTNCCTACTTTNGGNTGAATTAAACTTTNA
 NCANATTTCCTCTNGTTGGCCTTGGGATCATTCCCCTATTGATCCTNCTGGTCAAAAATTG
 GGNTTNGGCTATTCTCNCCACCCCCCANGGA

20 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 6:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge:	748 Basenpaare
25 (B) Typ:	Nucleinsäure
(C) Strangtyp:	Doppelstrang
(D) Topologie:	linear
(2) Molekülart:	DNA
30 (3) hypothetisch:	nein
(4) Antisense:	nein

(5) Herkunft:

35 (F) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 6:

TTGANNCNTNNNGAGCTCCCCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCGACACGCTGAC
 40 ATCACCAAGGCTGCAAATCAAGGCCAAGCGCAGCCGCAGCATTATCTCCGTGCCTGCAGCAACTT
 TCACTCCACCTGGAGTTGTTCCCGCAATCGCATTTGGGGCCAGGAGTTCAAGGAAGTTCCACCTCA
 TGGCCCAGCGCCAAGGCAGCTAGATCGGTGCCACGCACGATCACCGTGCTGTAGTAGCCCGT
 TCCAGAACATCACCATGGTCGGTGACTTGCCTCCCGTCCATCAAATGCCAGGTGAGGAAAT
 CATGAGGCAACATCACCGACGCCGTGCGCGCTGCATTCTGGTTCATGATCACGCATCCACCGC
 45 ATTTTGGTGGCAGTTAAAGAACATACACACTTCCGTGGCATCTACCGCAGCCTGATCGCC
 GCCGATCTCCTCATTGAGATCCAACGCAGCCTGGCAGAACCGAGTGTCAATTCCATAACACGCCG
 GGCAGACGATTCATCGTTTCAACGCCACCATGCCGTGCTGGCCTGCAATAGATACA

14

GCGTCCGCGCGTTCTAACAAACCCCTCGGTAGCTTAGCCAGCGCAGCGATCCACGCACGTGGATC
 TACTTCGACCCGTTGGGGTGACTCGCGCGGCTCGATAACCTGGCCGGTGGCGGCGTCACAA
 GCAAAAGCCTTGCAGGAATGGGTGGGAACATATC

5 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 7:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 648 Basenpaare

10 (B) Typ: Nucleinsäure

(C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2.) Molekülart: DNA

(3) hypothetisch: nein

15 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(G) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

20 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 7:

TGCAGCCCAGGGGATCACCGACGCCAAGGCTACGTAGGAATCCCCTCCCCGACACCATCGTGC
 CATCGCAAACCCAGAAAACCTCGACGAAACCATGCCGACGGCAGCGAAGGCGAAGTCCTAGTCA
 AGGGCCCACAGGTGTTCAAGGGTTACCTCAACCAGGAAGAAGCCACCAAGAACAGCTTCCACGGC
 25 GAGTGGTACCGCACCGGCACGTCGGAGTGTGGAAAGAACGGGTTCATCCGCCTAGTTGCTCG
 CATCAAGGAAGTCATCATCACTGGCGGTTCAACGTGTACCCAGCTGAGGTTGAAGAACGCTCG
 CAGAGCACCCAGACATTGAAGATTCCGCAGTCGTTGGTATCCCGCGTGAAGACGGCTCCGAAAAC
 GTCGTTGCTGCATCACTTGGTGGAAAGGTGCAGCGCTGGATCCGGATGGCCTGAAGGAATTGCC
 GCAAGAACCTACCCGCTCAAGGTTCCCGCGACTTCTACCAATTGGNCTAGTTACCCCCANAAGCATTGAGGG
 30 GATGGCAAGATTAGGCCTCGTGAAGTGCANGCGGAGTTGTTGAAGAACTCGGCAGTNACGCCGAT
 TAAGAGGTCAGTTCCAAATGGCACTTACCAATTGGNCTAGTTACCCCCANAAGCATTGAGGG
 TTCCACTTTACCCAGTGGNTGTGTGATCCTNT

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 8:

35

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 698 Basenpaare

(B) Typ: Nucleinsäure

40 (C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

(3) hypothetisch: nein

45 (4) Antisense: nein

15

(5) Herkunft:

(H) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

5 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 8:

GCAGCCCAGGGATCCTGGTGNACCAACCCTGGACATGCTAAGATGGAACAGCAAATCGACTC
CCTGGCACCAGGCATGCGAACGCGTACATGCACCACTACAACCTCCCTCCATACTCCACCGGTG
AAACCGGTCGTGGCTCACCAAAGCGCCGAAATCGGCCACGGTGCATTGCAGAACCGCGCA
10 GTTTGCCAGTAATCCCATCCGTGAGGAATTCCCATACGCAATCCGTCAAGGTCTCTGAAGCTCT
GGGCTCCAACGGCTCCACCTCCATGGGCTCTGTCTGTGCATCCACTCTGTCCCTGTACAACGCTG
GTGTTCCACTGAAGGCACCTGTTGCAGGTATGCCATGGACTTGTGTTCCGGTGAATCGACGGC
AAGACCGAGTACGTTGCACTGACCGACATCCCTGGCGCAGAAGACGCATTGGCGACATGGACTT
CAAGGTTGCCGGCACCGCAGACTTCATACCGNACTTCAGCTGGACACCAAGCTGGACNGCATTCC
15 TTCAAGGTGCTCCGATGCGCTTGAGCANGCACGCGATNCCGACTGACATCTGAACACATGGCT
GATGTATCAACGGACCTTGATGAGATGAGCAAGTTCGTTCTGCATACCAACCGNGAAATCCCATGG
CAAAATCGNGACTGTCGACCAAGGGTAGACATTACGCTTACNATTG

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 9:

20

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1159 Basenpaare
(B) Typ: Nucleinsäure
25 (C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
30 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(I) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

35

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 9:

TTNANNCGTTGGAGCTCCCCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCACACAAAATGATT
AGATTGTGTGCGAATTCACTCCAATTGCTGTCTATATGCAGTACGCATGGCAACACTATAAGGCGA
40 TAATGGTATTCTGCAGGCCTAAAACACCCCTTAAGATTGAATCACCTAATAATGGGGATAGC
CAACTATTGGCGGGGTAAGT
ATTAAATTAACTACCCCTCCGGAGTTTCCATTCTGCGCCTTAGGAACAGTGGCATCCTCAGGA
TCGTCCAACCAGCCATCTGGAAGTGCCACCTTGCAGGAGCGCCCTGTCGACCTCGTGCACCTTC
CGCGCCTCTGCCTTGGCGGTGRAGTCAGCCATGGTGCAGGAGATCCTCAAGCTCCACATAGG
45 TGGAAACCTTGGCCAGATTGGAGCGGAATTGCCGCCAACAGGGAAACCGCGCAGGTCCAACCCA
TGTGCTTACGCAGATCGCGCAGCCCCTTGGTTGCCATCATGCTGCATGAGGAGTTCTGCGTGG
CGCAGGATGATTGGGTAACCTGCCGAAGGTAGGCTCCTGGGATTCTCCACGAACAGC

16

AGCAGCAGCTCAGCAAAGAGCCAAGGCCTGCCAGGCAACCACgGCCAACCACGACGCCATCGC
AGCCAGTTGCTCCATCATGCGCGTGCATCGGATGCCGAAAATATGCCATTGCCAAA
GGGATGCCGGTATCTGCCAAATGCTCYTCAGGCGCGATCTYGTCCAATCAGCCTCACCGGA
ATAGCGCTGCCCGCAGTGCAGGGCGTGAAGCGCTACGGACTTCGCCGGCGTCACAGCAATGC
5 GTCCAGCATCCAAGTGAGTATGGTGCATCATCAATACCAACGCGGAACCTCACCCTCACCGGA
ATGTCCGTGCCTCCGTAGCCTTCACAGCCGGAAACGATGTTCAAACAAACGGCGCTTGT
AGGAATCGCAGAACGCCACCCGGCGGTGACCTTGGAACCGGGCAGCAAAGTCATATCAA
TATGATCCCCGGGCTGCAGGAATTGATATCAAGCTTATCGATAACGTCGACCTCGAGGGGGGG
CCCGTACCCAGCTGTGTTCCAANGGNTCCAA

10

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 10:

(1) Sequenzcharakteristika:

15 (A) Länge: 761 Basenpaare
(B) Typ: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

20 (2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

25 (J) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 10:

30 TTGAANCCTTANNGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCCTAGAACTAGTGGATCTCGATTCACT
CGAGCTTGATGAAACTGTCAAGGTCGTTGCCTTCACTCACCAGTCCAATGTGACCGGTGCTGTGG
CTGATGTTCCAGAGTTGGTTCGTCGTGCCAAGGCTGTCGGCGCTCTCACGGTGCTTGATGCGTG
CAGTCTGTTCTCATATGCCAGTGAATTCCACGAGCTGGATGTAGATTCTCTGCATTCTCTGG
CCATAAGATGCTGGGACCTGCAGGCGTGGCGTTGTATGCAAAGTCCCCAATCTGGATGAAC
35 TGCCACCATTGACTGGTGGTCCATGATTGAAGTTGTCACCATGGAGGGTTCCACCTACGCT
GCCGCACCTAACGTTGAGGCCGGCACGAGATGACCAGCCAGGTTGTGGGCTTGGGTGCTGC
CGTGGACATGCTGAATGAAATCGGTATGGAAGCAATCGCAGCNGCATGAGCACGCAATTGACTGCT
TACGCGTTGGAAAAGCTACGGCAATTAAAGGGACTAACCATTGCTGGCCTTGTACTGCAGAG
CATCGCGGNGGTGCAATCAGCTCNGTGTNCANGCATTCAACNACAGATCTANGCAGAAAGTGC
40 TTGACCATCAGGGCGTGAATATTCCGNGTGGGCACCACTGTGCGTGGGCCTGCACCGCANCATT
GAACGTNCAATNGNANACAAGAGCATTCTATCTATTACACC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 11:

45 (1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 791 Basenpaare

17

(B) Typ: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

5 (2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

10

(K) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 11:

15 TTGACCCTTAGCTGGTACCGGGCCCCCTCGAGGTCGACGGTATCGATAAGCTTGATATCGA
ATTCCCTGCAGCCCAGGGATCTCATGCCAACAAACTGACCGCGGGAAACGATCATCTCTCAA
ATTCTGTGAGCTTTCCAGCGCCTGTCGACGGTTGGCCCACGATCTCCCGGCCATAACGGAC
GTGGAGGCCTGGCTGATTGAGCAACCAACTGCTCGTAGGAGACGTCCTCACGGTGGAGCCGTC
CTCAGACAGCTTCACCGCAGAGTCAATTGCTGCCACAAGAAGGGTTGACGTGGTGAACCTCAG
20 CATCGAAAGGATCCCGAAGGCCCTTGCTGTGGTTTTGTAGTGGTCCAGGATCACCTCCTGG
TACATCTGCTCAAGGTCATTACTCAACTCCAAAGAATTGCTTGGCCTCTCGATCGCTGCCGCG
AGGCGGTCGATTCTCGAAGGTGTTAGAGATAGAAAGATGCTCTGCTGTCGATTGTACCGT
TCATGCTGCGGTGCACGCCACCGCAGTGGTGGNCAGCCGGATATTCACGCCCTGATCGTCA
AGCACTGGCCTAACGTGTGGGTGAATGCCTCGACACCGAACTGATGCACCGCGNCTGCTNTN
25 CATCAAAAGGACCANCNATGGGTAAGTCCTTAATGCCNGAGCTTTCAACCGTAAGCAGGTAA
TGCNNCTATGCNCTGCGATGNTTCAACGATTNNNTAAGANTNTCCCCGGNTNCCCNANCCC
NAAACTGGTTN

30

35

40

45

Patentansprüche

1. Ein gereinigtes Polynucleotid mit einer Nukleinsäuresequenz,
5 die aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: SEQ ID NR. 1, SEQ ID NR. 2, SEQ ID NR. 3, SEQ ID NR. 4, SEQ ID NR. 5, SEQ ID NR. 6, SEQ ID NR. 7, SEQ ID NR. 8, SEQ ID NR. 9, SEQ ID NR. 10, SEQ ID NR. 11.
- 10 2. Ein Expressions-Vektor mit einem dem Anspruch 1 entsprechenden Polynucleotid.
3. Eine Wirtszelle, die mit dem Expressions-Vektor aus Anspruch 2 transformiert ist.
- 15 4. Eine Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die aus folgenden Schritten besteht:
 - (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedingungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind; und
 - (b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

25

30

35

40

45